Test CEDIA® Multi-Level THC

Thermo SCIENTIFIC

IVD **Pour usage diagnostique in vitro**

REF 10016433 (3 x 17 mL Indiko Kit)
100091 (Coffert de 3 x 17 mL Kit)
100100 (Coffert de 65 mL Kit)
1661256 (Coffert de 495 mL Kit)

Application

Le test CEDIA® THC est un dispositif médical diagnostic in vitro permettant la détermination qualitative et semi-quantitative des cannabinoïdes (THC) dans l'urine humaine.

Ce test ne fournit qu'un résultat préliminaire. Il est nécessaire de confirmer les résultats analytiques obtenus à l'aide d'une méthode chimique alternative de diagnostic plus spécifique. Utiliser alors de préférence la chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse (CG/SM).[1] Les résultats de ce test doivent être interprétés en tenant compte du tableau clinique et de l'avis d'un professionnel avant de conclure à une drogue utilisée par les toxicomanes, en particulier si des résultats positifs préliminaires sont utilisés.

Résumé et description du test

La marijuana et le haschisch, sont extraits du chanvre Cannabis sativa, cultivé dans le monde entier.[2,3] Ces drogues contiennent au moins 61 cannabinoïdes (classe de substances chimiques unique à la plante de cannabis) dont le composé psycho-actif principal est le Δ^9-tétrahydrocannabinol (THC).[2,3] Le THC agit comme un nooleptique léger pouvant provoquer l'euphorie, l'exaltation et même, à doses plus fortes, des hallucinations.[2,4]

Le THC, qui est très liposoluble, s'accumule facilement dans les tissus adipeux où il peut rester pendant plusieurs jours ou même plusieurs semaines.[2,3,5] Il est rapidement transformé par les enzymes hépatiques en au moins 24 métabolites dont le principal est l'acide 11-nor-Δ^9-tétrahydrocannabinol-9-carboxylique.[2-5] Environ 70% d'une dose de THC sont excrétés dans les selles et l'urine, dans les 72 heures suivant la prise.[4] Les concentrations de métabolites du THC dans l'urine sont influencées par plusieurs facteurs: la fréquence des prises antérieures; le moment de prélèvement de l'échantillon urinaire par rapport à l'exposition la plus récente au THC et la vitesse de libération des cannabinoïdes accumulés par les tissus adipeux.[5] Les échantillons urinaires prélevés chez des consommateurs chroniques de grosses quantités de THC peuvent donner des résultats positifs un mois (ou plus) après la dernière prise de drogue.[2,5]

Le test CEDIA THC multi-concentrations utilise la technologie de l'ADN recombinant (brevet US n° 4708929) et correspond à une méthode immuno-enzymatique en phase homogène unique.[6] Ce test utilise l'enzyme bactérienne β-galactosidase scindée au préalable en deux fragments inactifs par génie génétique. Ces fragments se réassocient spontanément pour former une enzyme pleinement active qui, lors de la réaction, fragmente un substrat, produisant un changement de coloration que l'on peut mesurer par spectrophotométrie.

La drogue contenue dans l'échantillon entre en compétition avec la drogue conjuguée à un des fragments inactifs de la β-galactosidase pour se fixer sur les sites de liaison des anticorps. Si la drogue est présente dans l'échantillon, elle se fixe sur les anticorps, laissant ainsi les fragments inactifs de l'enzyme former une enzyme active. Si l'échantillon ne contient pas de drogue, les anticorps se lient à la drogue conjuguée du segment inactif, entravant la réassociation des fragments inactifs de β-galactosidase, ce qui empêche la formation d'une enzyme active. La quantité d'enzyme active produite et la modification de l'absorbance correspondante sont proportionnelles à la quantité de la drogue dans l'échantillon.

Réactifs

1 **Tampon de reconstitution EA:** Contient de l'acide 3-(N-morpholino) propane sulfonique, sels tampons 0,56 µg/mL anticorps monoclonaux anti-11-nor-Δ^9-THC-COOH, stabilisant et conservateur.

1a Réactif EA (enzyme accepteur): Contient 0,171 g/L d'EA (microbien), sels tampons, détergent et conservateur.

2 **Tampon de reconstitution ED:** Contient de l'acide 3-(N-morpholino) propane sulfonique, sels tampons, stabilisant et conservateur.

2a Réactif ED (enzyme donneur): Contient 12,42 µg/L d'ED (microbien) marqué au 11-nor-Δ^8-THC-COOH, 1,67 g/L rouge de chlorophénol-β- D-galactopyranoside, stabilisant et conservateur.

Matériel supplémentaire: Étiquettes à code-barres de remplacement (nº de réf. 100091 et 100100 seulement. Se référer à la fiche technique spécifique de l'analyseur pour le mode d'emploi). Flacons vides d'analyseur pour le transvasement des solutions EA ED (nº de réf. 100100). Flacon vide d'analyseur pour le transvasement des solutions ED (nº de réf. 1661256 seulement).

Matériel supplémentaire requis (vendu individuellement):

Étalon négatif CEDIA
Étalons CEDIA THC 25, 50, 75 et 100
Groupes de témoins THC 25, THC 50 et THC 100
Les étalons et les témoins requis sont en fonction du seuil de test utilisé. Voir la section Contrôle de qualité et Étalonnage pour des informations supplémentaires.

⚠ Avertissements et mises en garde

Les réactifs contiennent de l'azide de sodium. Éviter tout contact avec la peau et les muqueuses. En cas de contact, rincer à grande eau. En cas de projection dans l'œil ou d'ingestion, consulter immédiatement un médecin. L'azide de sodium peut réagir dans les conduites de plomb ou de cuivre et former des azides métalliques explosifs. Pour éliminer les réactifs, il est donc nécessaire de rincer abondamment à l'eau afin d'éviter toute accumulation d'azides. Nettoyer les surfaces métalliques exposées avec de la soude caustique à 10%.

Préparation et conservation des réactifs

Voir ci-dessous la préparation des solutions pour les analyseurs Hitachi. Pour tous les autres analyseurs, se référer à la fiche technique spécifique de chaque appareil. Sortir le kit du réfrigérateur (2-8°C) immédiatement avant la préparation des solutions. Préparer les solutions dans l'ordre ci-dessous afin de réduire le risque d'une éventuelle contamination:

Solution ED R2: Relier le flacon 2a (réactif ED) au flacon 2 (tampon de reconstitution ED) à l'aide de l'un des raccords fournis. Mélanger par retournements lents, en veillant à ce que le lyophilisat du flacon 2a soit entièrement transvasé dans le flacon 2. Éviter la formation de mousse. Détacher du flacon 2 le flacon 2a et le raccord, et les jeter. Reboucher le flacon 2 et le laisser reposer debout pendant environ 5 minutes à température ambiante (15 à 25°C). Mélanger à nouveau. Inscrire la date de reconstitution sur l'étiquette du flacon.

Solution EA R1: Relier le flacon 1a (réactif EA) au flacon 1 (tampon de reconstitution EA) à l'aide de l'un des raccords fournis. Mélanger par retournements lents, en veillant à ce que le lyophilisat (flacon 1a) soit entièrement transvasé dans le flacon 1. Éviter la formation de mousse. Détacher du flacon 1 le flacon 1a et le raccord, et les jeter. Reboucher le flacon 1 et le laisser reposer debout pendant environ 5 minutes à température ambiante (15 à 25°C). Mélanger à nouveau. Inscrire la date de reconstitution sur l'étiquette du flacon.

Nº de réf. 100100 - Analyseur Hitachi 717, 911, 912 ou 914: Transvaser les réactifs reconstitués dans les flacons vides correspondants de 100 mL R1 et R2 fournis avec le kit. **Hitachi 917/ Modular Analytics P:** Utiliser les réactifs reconstitués sans transvaser les flacons.
Nº de réf. 1661256 - Analyseur Hitachi 747/Modular Analytics D: Á l'aide de l'entonnoir fourni, transférer une partie de la solution R2 dans le flacon de solution R2 vide fourni et portant l'étiquette correspondante.

REMARQUE 1: Les composants contenus dans ce kit doivent être utilisés ensemble. Ne pas mélanger de composants provenant de lots différents.
REMARQUE 2: Veiller à ne pas intervertir les bouchons des flacons de réactifs pour éviter toute contamination croisée des réactifs. La solution R2 doit être jaune orangé. Une coloration rouge sombre ou rouge violacé signifie que le réactif est contaminé et doit être éliminé.
REMARQUE 3: Les solutions R1 et R2 doivent être amenées à la température du compartiment de stockage de l'analyseur avant de procéder au test. Se référer à la fiche technique spécifique de l'analyseur pour toute information complémentaire.
REMARQUE 4: Pour assurer la stabilité de la solution EA reconstituée, ne pas l'exposer de façon permanente et prolongée à une lumière vive.

Stocker les réactifs entre 2 et 8°C. **NE PAS CONGELER.** Pour la stabilité des composants non ouverts, se référer à la date de péremption figurant sur l'étiquetage de la boîte ou des flacons.

Solution R1: 60 jours réfrigérée dans l'analyseur ou entre 2 et 8°C.
Solution R2: 60 jours réfrigérée dans l'analyseur ou entre 2 et 8°C.

Prélèvement et manipulation des échantillons

Recueillir les échantillons d'urine dans des récipients propres en verre ou en plastique. Centrifuger les échantillons présentant une forte turbidité avant de les analyser. Tout échantillon d'urine humaine doit être manipulé comme étant potentiellement infectieux. Recueillir et tester un nouvel échantillon si on soupçonne une adultération de l'échantillon d'origine. L'adultération des échantillons d'urine peut affecter les résultats du test.

Tout échantillon qui n'est pas initialement testé dans les 7 jours suivant son arrivée au laboratoire doit être conservé dans un réfrigérateur en milieu fermé, conformément aux *The Mandatory Guidelines for Federal Workplace Drug Testing Programs ; Final Guidelines ; Notice.*[7]

Procédure du test

Pour réaliser ce test, on peut utiliser un analyseur chimique capable de maintenir une température constante, de prélever des échantillons à la pipette, de mélanger des réactifs, de mesurer des taux enzymatiques et d'assurer le minutage de la réaction. Les fiches techniques avec les paramètres spécifiques des instruments sont disponibles auprès de Microgenics, une division de Thermo Fisher Scientific.

Des étiquettes à code-barres supplémentaires sont fournies pour une détermination semi-quantitative avec les kits de 17 et de 65 mL seulement. Pour les utiliser, recouvrir l'étiquette de chaque flacon de celle qui convient.

Contrôle qualité et étalonnage[8]

Analyse qualitative

Pour réaliser une analyse d'échantillons qualitative, utiliser l'étalon CEDIA THC 25, 50 ou 100 ng/mL (en fonction du seuil choisi) pour analyser les résultats. Pour les analyseurs Hitachi, l'étalon correspondant au seuil sélectionné est placé dans une position standard appropriée sélectionnée par l'utilisateur. Entrer zéro pour S1 ABS et 1 000 pour le facteur K à l'écran d'étalonnage/liste d'étalonnage/fenêtre d'informations de travail. Pour tous les autres analyseurs, se référer à la fiche technique spécifique de chaque appareil.

Analyse semi-quantitative

Pour réaliser analyse semi-quantitative, utiliser l'étalon THC 50 ng/mL avec les étalons négatifs, 25, 75 et 100. Pour les analyseurs Hitachi, les étalons sont placés dans des positions standard appropriées sélectionnées par l'utilisateur. Pour tous les autres analyseurs, se référer à la fiche technique spécifique de chaque appareil. L'appareil doit être recalibré à chaque changement de réactifs et en cas d'écart dans les valeurs de contrôle.

Il est important de prévoir la vérification quotidienne des échantillons de patients et de l'étalonnage effectué à l'aide d'échantillons de contrôle. Il est recommandé d'effectuer deux contrôles de qualité: l'un de 25% supérieur au seuil sélectionné, l'autre de 25% inférieur au seuil sélectionné. L'évaluation du contrôle qualité doit se baser sur les valeurs obtenues par les témoins, elles doivent se situer dans les limites spécifiées. En cas de détection d'une tendance à la hausse ou à la baisse ou de décalages soudains, vérifier tous les paramètres de fonctionnement. Pour plus de renseignements, s'adresser au service technique Microgenics. Toutes les exigences de contrôle qualité doivent être appliquées conformément aux règlements locaux, régionaux et nationaux ou aux conditions d'agrément.

Résultats et valeurs attendus

Résultats qualitatifs

L'étalon CEDIA THC 25, 50 ou 100 ng/mL sert de référence pour différencier entre les échantillons positifs et les échantillons négatifs. Les échantillons générant une réponse dont la valeur est égale ou supérieure à celle de l'étalon sont considérés comme positifs. Les échantillons dont le résultat est inférieur à celui de l'étalon sont considérés comme négatifs. Se référer à la fiche technique spécifique de l'analyseur pour toute information complémentaire.

Résultats semi-quantitatifs

L'étalon CEDIA THC 50 utilisé en conjonction avec l'étalon négatif et les autres étalons THC peut être utilisé pour estimer des concentrations de THC relatives. Se référer à la fiche technique spécifique à l'analyseur pour obtenir des informations détaillées.

Les résultats de concentration doivent être rapportés avec prudence car de nombreux autres facteurs sont susceptibles de fausser les résultats d'un test urinaire, tels que l'apport hydrique et autres facteurs biologiques.

Limitations

1. Un résultat positif au test indique la présence de cannabinoïdes dans l'échantillon ; il n'indique ni ne mesure une intoxication.
2. D'autres substances et/ou facteurs non répertoriées peuvent perturber le test et provoquer des résultats erronés (erreurs techniques ou de procédure).

Performances spécifiques

Les résultats de performance effectifs indiqués ci-dessous ont été obtenus avec un analyseur Hitachi 717.[9] Les résultats obtenus dans un laboratoire peuvent être différents de ces données.

Précision

La précision de mesure a été étudiée avec un analyseur Hitachi 717 en utilisant les réactifs, les étalons et les témoins fournis dans le conditionnement et en suivant un protocole de réplication modifié NCCLS. Les résultats ci-dessous en mA/mn ont été obtenus.

Seuil de 25 ng/mL	Prêcision dans la serie			Prêcision totale		
ng/mL	20	25	30	20	25	30
n	120	120	120	120	120	120
$\bar{x}$	373,3	456,14	556,0	373,3	456,1	556,0
SD	3,07	4,67	4,36	13,61	15,20	16,97
%CV	0,9	1,0	0,8	3,6	3,3	3,1

Seuil de 50 ng/mL	Prêcision dans la serie			Prêcision totale		
ng/mL	40	50	60	40	50	60
n	120	120	120	120	120	120
$\bar{x}$	391,2	479,5	584,8	391,2	479,5	584,8
SD	3,20	4,95	5,18	14,41	16,42	17,73
%CV	0,8	1,0	0,9	3,7	3,4	3,0

Seuil de 100 ng/mL	Prêcision dans la serie			Prêcision totale		
ng/mL	75	100	125	75	100	125
n	120	120	120	120	120	120
$\bar{x}$	393,1	505,5	624,7	393,1	505,5	624,7
SD	4,20	6,45	6,05	14,47	16,67	17,99
%CV	1,1	1,3	1,0	3,7	3,3	2,9

Exactitude

Six cent trente sept échantillons ont été testés avec le Test CEDIA THC sur l'appareil Hitachi 717 et avec un dosage immuno-enzymatique (DIE) disponible dans le commerce. Les résultats suivants ont été obtenus :

A. Seuil de 25 ng/mL

EIA 20ng/mL Seuil	CEDIA +	CEDIA -
+	163	4*
-	1**	469

B. Seuil de 50 ng/mL

EIA 50ng/mL Seuil	CEDIA +	CEDIA -
+	159	0
-	1†	477

C. Seuil de 100 ng/mL

EIA 100ng/mL Seuil	CEDIA +	CEDIA -
+	103	2•
-	18‡	514

* Les échantillons ont été soumis à une analyse CG-SM indiquant un contenu de 4-13 ng/mL de 11-nor-Δ^9-THC-COOH.
** L'échantillon a été soumis à une analyse CG-SM indiquant un contenu inférieur à 3 ng/mL de 11-nor-Δ^9-THC-COOH.
† L'échantillon a été soumis à une analyse CG-SM indiquant un contenu de 28 ng/mL de 11-nor-Δ^9-THC-COOH.
‡ Les échantillons ont été soumis à une analyse CG-SM indiquant un contenu de 40-104 ng/mL de 11-nor-Δ^9-THC-COOH.
• Les échantillons ont été soumis à une analyse CG-SM indiquant un contenu de 44-51 ng/mL de 11-nor-Δ^9-THC-COOH.

Spécificité

Lorsque les molécules mères et les métabolites suivants ont été soumis au test CEDIA THC, ils ont donné les résultats (%) de réactivité croisée suivants :

Substance	Concentrations Testées (ng/mL)	Réactions Croisées %
11-nor-Δ^9-THC-COOH	50	100
11-nor-Δ^8-THC-COOH	40	125
Δ^9-THC	500	10,4
11-OH-Δ^9-THC	125	43
8ß-OH-Δ^9-THC	1000	2,8
8ß, 11-di-OH-Δ^9-THC	5000	8,4
1--Δ^9-THC-Glucuronide	62	78
Cannabinol	1000	2,9
Cannabidiol	1000	< 0,1

Des composés à structure non apparentée, soumis au test CEDIA THC seuil de 50 ng/mL ont donné un résultat négatif aux concentrations énumérées ci-dessous.

Substance	Concentration testée (ng/mL)	Substance	Concentration testée (ng/mL)
Acétaminophene	500 000	Ibuprofène	500 000
Acide acétylsalicylique	500 000	Lévothyroxine	50 000
Acide salicylurique	500 000	Méthadone	500 000
Amoxicilline	100 000	Méthamphétamine	500 000
Amphétamine	500 000	Morphine	100 000
Benzoylecgonine	500 000	Nifédipine	500 000
Captopril	500 000	Phencyclidine	500 000
Chlordiazépoxide	100 000	Phénobarbital	500 000
Cimétidine	500 000	Propoxyphéne	500 000
Codéin	500 000	Ranitidine	500 000
Diazépam	500 000	Sécobarbital	500 000
Digoxine	100 000	Tolmétine	500 000
Enalapril	500 000	Vérapamil	500 000
Fluoxétine	500 000		

Remarque: Un métabolite du médicament anti-HIV Sustiva (précédemment appelé DMP 266) peut donner de faux positifs au test CEDIA THC.

Aucune interférence n'a été observée lorsque les substances suivantes ont été ajoutées aux concentrations endogènes normales trouvées dans les urines soumises au test CEDIA THC:

Substanz	Kozentration	Substanz	Kozentration
Acétone	≤ 1,0 g/dL	Gammaglobuline	≤ 1,0 g/dL
Acide ascorbique	≤ 1,5 g/dL	Glucose	≤ 3,0 g/dL
Acide oxalique	≤ 0,1 g/dL	Hémoglobine	≤ 0,3 g/dL
Chlorure de sodium	≤ 6,0 g/dL	Riboflavine	≤ 7,5 mg/dL
Créatinine	≤ 0,5 g/dL	Séralbumine humaine	≤ 1,0 g/dL
Ethanol	≤ 1,0 g/dL	Urée	≤ 6,0 g/dL
Galactose	≤ 10 mg/dL		

Sensibilité
Pour l'analyse qualitative, la limite de détection se situait à 1,3 ng/mL, 2,1 ng/mL et 5 ng/mL pour les protocoles utilisant un seuil de 25 ng/mL, 50 ng/mL et 100 ng/mL respectivement. Pour l'analyse semi-quantitative, la limite de détection se situait à 11,8 ng/mL.

Bibliographie

1. Hawks, RL. Analytical methodology. In: Hawks, RL, Chiang, CN, eds. Urine Testing for Drugs of Abuse. NIDA Research Monograph 1986, 73:30-41
2. Julien RM. A Primer for Drug Action. 6th ed. New York, NY: WH Freeman & Co; 1992.
3. Chiang CN, Barnett G. Marijuana pharmacokinetics and pharmacodynamics. In: Redda KK, Walker CA, Barnett G, eds. Cocaine, Marijuana, Designer Drugs: Chemistry, Pharmacology, and Behavior. Boca Raton, FL: CRC Press Inc; 1989.
4. Baselt RC, Cravey RH. Disposition of Toxic Drugs and Chemicals In Man. 3rd ed. Chicago, Ill: Year Book Medical Publishers, 1989.
5. Hawks RL, Chiang CN. Examples of specific drug assays. In: Hawks RL, Chiang CN, eds. Urine Testing for Drugs of Abuse. NIDA Research Monograph. 1986; 73: 84-92.
6. Henderson, DR, Friedman, SB, Harris JD. et al. CEDIA, a new homogeneous immunoassay system. Clin Chem. 1986; 32: 1637-1641.
7. Notice of Mandatory Guidelines for Federal Workplace Drug Testing Program: Revised mandatory guidelines, Federal Register. 1994; 110 (June 9): 11983. (Revised Guidelines expected in 2002).
8. Les données de tracabilité sont conervées par Microgenics Corporation, une division de Thermo Fisher Scientific.
9. Données conservées par Microgenics Corporation, une division de Thermo Fisher Scientific.

Microgenics Corporation
46360 Fremont Blvd.
Fremont, CA 94538-6406 États-Unis
Soutien client et technique
aux États-Unis :
1-800-232-3342

EC REP
Thermo Fisher Scientific Oy
Ratastie 2, P.O. Box 100
01621 Vantaa, Finland
Tel: +358-9-329100
Fax: +358-9-32910300

Pour des mises à jour de la notice, consulter:
www.thermoscientific.com/diagnostics

Autres pays:
Contacter le représentant local Thermo Fisher Scientific.

CEDIA - Marque déposée de la Société Roche Diagnotics.

10006559-2_FR
2012 07

Thermo SCIENTIFIC